Aus der hygienischen Abteilung des
Instituts für Hygiene und experimentelle Therapie zu Marburg.
(Abteilungsvorsteher: Professor Dr. Bonhoff.)

Zur Kenntnis des serologischen Verhaltens der Kapselbazillen.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

in der

Medizin, Chirurgie und Geburtshilfe

der

Hohen Medizinischen Fakultät der Universität Marburg,

vorgelegt von

Wilhelm Cordes,
Medizinalpraktikant aus Elberfeld.

Marburg in Hessen
Chr. Schaaf, Spezialdruckerei für Dissertationen
1913.

Von der Hohen Medizinischen Fakultät der Universität Marburg
als Dissertation angenommen am 28. V. 1913.

Referent: Professor Dr. Bonhoff.

Meinen lieben Eltern.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41556030_0007

Auf vielen Gebieten der Bakteriologie haben die serologischen Erkenntnisse und Methoden außerordentlich fruchtbringend gewirkt und uns in die Lage versetzt, dort sondernd und verbindend weiter vorzudringen, wo morphologische, kulturelle und chemische Differenzierungsmöglichkeiten versagten. Doch nicht überall ist der Serologie ein voller Erfolg zuteil geworden. So sind die Ergebnisse der Forschung in der großen Gruppe der sog. Kapselbakterien noch recht widerspruchsvoll, und schnell gelangt man an die Grenze des allgemein anerkannt festen Bodens. Das Problem birgt Schwierigkeiten subtiler Art; vielleicht hat es deshalb nicht die Bearbeitung erfahren wie andere Zweige der Bakteriologie. Auch ist zuzugeben, daß es nicht im Vordergrunde des praktischen Interesses steht, weil die Kapselbazillen in der Pathologie keine hervorragende Rolle spielen.

Man ist gewohnt, unter dem Namen der Kapselbazillen eine Gruppe von Mikroorganismen zusammenzufassen, die unter gewissen Lebensbedingungen mit einer Schleimhülle umgeben sind und einige andere gemeinsame Merkmale tragen. Abel legt diese folgendermaßen fest:

1. Kurze plumpe Stäbchenform mit geringen Variationen.

2. Unbeweglichkeit.
3. Mangelnde Sporenbildung.
4. Leichte Färbbarkeit mit den gebräuchlichen Anilinfarben. Nichtempfänglichkeit für die Gram'sche Färbung.
5. Anspruchslosigkeit hinsichtlich des Nährbodens.
6. Wachstum bei Luftzutritt und Luftabschluß, jedoch besseres Gedeihen unter aeroben Verhältnissen.
7. Wachstum auf Gelatine ohne Verflüssigung.
8. Neigung zur Bildung von Schleimmassen in den Kulturen.
9. Fehlende Indolbildung.
10. Eine gewisse Pathogenität für Menschen und die kleinen Versuchstiere.

Soweit der allgemeine Charakter der Bakteriengruppe, deren Prototyp der Bacillus pneumoniae Friedländer darstellt. Andere Vertreter sind der Ozaena- und Rhinosklerombazillus, benannt nach den gleichnamigen Krankheitsprozessen, der Bacillus aerogenes capsulatus, der im Darmtraktus sich vorfindet, der Bacillus lactis innocuus u. a. m. Schon die große Zahl der Namen kennzeichnet die Unsicherheit der Klassifizierung und Identifizierung der einzelnen Arten. Es sind natürlich viele Versuche gemacht worden, um auf Grund des kulturellen Verhaltens eine Einteilung der Gruppe zu schaffen, und da hat sich besonders das Vergärungsvermögen gegenüber verschiedenen Zuckerarten und die Säurebildung als brauchbar gezeigt. Es sei nur auf die grundlegenden Arbeiten von Wilde und Clairmont hingewiesen. Beide fanden, daß diese chemischen Eigenschaften am ausgeprägtesten bei den Aerogenes-

stämmen vorhanden waren, weniger bei den Friedländerstämmen, und garnicht oder minimal bei den Sklerombazillen. Zuletzt hat Bertarelli diese Untersuchungsbefunde im ganzen bestätigt. Jedoch gibt Abel in einem umfassenden Überblick über diesbezügliche Versuche zu, daß bei kritischer Würdigung aller veröffentlichten Resultate ganz sichere Kennzeichen für bestimmte Arten der Kapselbazillen nicht nachweisbar sind, und daß es nur gelungen ist, einige Typen innerhalb der Gruppe aufzustellen, die als Anhaltspunkte zur Charakterisierung der einzelnen Arten dienen können.

Mit der Entwickelung der Immunitätslehre begannen serologische Forschungen auf dem fraglichen Gebiet. Vor allem waren es Immunisierungsversuche, die von verschiedenen Autoren unternommen wurden, um Schutzstoffe gegen die menschen- und tierpathogenen Vertreter der Kapselbazillen zu erzeugen. Die Resultate waren negativ oder so wenig ermutigend, daß es lange als unmöglich galt, die Kapselbazillen zur Antikörpergewinnung zu verwenden. Clairmont gibt über diese Versuche, denen ein praktisches Interesse nicht mehr zukommt, ein eingehendes Referat.

Auch das Agglutinationsphänomen wurde kurz nach seiner Entdeckung in den Dienst der Sache gestellt. So berichten Kraus und Donath über Versuche, mit Sklerom- und Friedländer-Stämmen Agglutinine zu erzeugen, mit dem Erfolg, daß die unverdünnten Sera eine Reaktion in positivem Sinne gaben. Auch Landsteiner konnte Agglutinine nachweisen, jedoch ebenfalls nur in unverdünnten Seren. Auffällig ist eine Mitteilung Sicards, der neben

vielen vergeblichen Versuchen ein hochwertiges Agglutinationsserum gegen einen Friedländerstamm gewinnen konnte. Die damals unerklärliche Tatsache ist sehr wohl mit späteren Ergebnissen in Einklang zu bringen: wahrscheinlich hat es sich um einen kapsellosen Stamm gehandelt. Auch Clairmont ist es bei seinen umfangreichen Versuchen nicht gelungen, im Serum immunisierter Tiere Schutzstoffe nachzuweisen, und Agglutinine konnte er nur bei einigen Aerogenesstämmen erzielen. So kommt Clairmont zu dem Schlusse, daß die meisten Kapselbazillen überhaupt keine Immunkörper zu bilden imstande sind, und daß ein Versuch der Einteilung der ganzen Bakteriengruppe auf diesem Wege aussichtslos ist. Ebensowenig haben Klemperer und Scheier es vermocht, die Friedländer-, Ozaena- und Rhinosklerombazillen zur Erzeuguug wesentlicher Mengen von Antistoffen zu verwenden und daraufhin eine Differenzierung zu gründen. Sie raten sogar, jede Grenze zwischen den drei Arten fallen zu lassen. Eine jüngere Arbeit von Erben befaßt sich nochmals mit dem Problem, eine aktive Immunität gegen Kapselbazillen hervorzurufen; doch war die erzielte Schutzwirkung nur gering, besonders gegen natives Virus, und eine Unterscheidung zwischen Sklerom- und Friedländerbazillen auf diesem Wege nicht durchführbar. Auch ein Agglutinationsphänomen konnte der Autor nicht beobachten.

Ein namhafter Erfolg tritt zum ersten Male in einer Arbeit von Bertarelli zutage; dieser konnte nachweisen, daß es in der Tat gelingt, agglutinierende Sera bis zum Titer 1 : 1000 zu erhalten, allerdings nach langer Behandlung der Tiere mit bedeutenden

Mengen Bakterienmaterials. Die Sera gaben neben einer besonders starken Beeinflussung des Immunstammes Gruppenreaktionen, die Bertarelli berechtigten, die Friedländer- und Aerogenesstämme als verwandt zusammenzufassen (als gleichmäßige Agglutininbildner), während die Skleromstämme und ein Bacillus capsulatus mucosus ozaenae sich der Agglutination gegenüber refraktär verhielten. Leider fehlen in der Arbeit Angaben über die Schleim- und Kapselbildung der benutzten Stämme.

In ein neues Licht rückte die Frage durch die Entdeckung von Porges, der den negativen Ausfall der Agglutinationsversuche darin begründet fand, daß die Bazillen in kapselhaltigem Zustande der Agglutination nicht zugänglich sind. Er arbeitete daher eine Methode aus, durch Säurebehandlung die Bakterien von ihrer Kapsel zu befreien und so dem Agglutinin Angriffspunkte zu schaffen. Dabei erzielte er positive Ergebnisse bis zu einer Serumverdünnung von 1 : 500. In einer späteren Arbeit hat Porges zusammen mit v. Eisler diese Methode zur Differentialdiagnose der Kapselbazillen herangezogen. Es sollte durch die Dekapsulation gewissermaßen eine Norm geschaffen werden, von der aus die verschiedenen Bakterienarten in gleicher Weise der Agglutination zugänglich sind. So ist es den Verfassern gelungen, eine Spezifizität ihres Friedländer-, Ozaena- und Skleromstammes nachzuweisen, und dieses Resultat stützten sie durch den spezifischen Ausfall der Praezipitinreaktion, wobei als Praezipitinogen Bouillonfiltrate der genannten Bakterienarten dienten. Die Versuche erstreckten sich jedoch lediglich auf die genannten Stämme. — Mit dem Dekapsulationsverfahren ging auch Wolf vor,

um einen Bacillus durch die Agglutinationsreaktion als Bacillus Friedländer zu identifizieren. Dabei gewann er Sera, die bis zu einer Verdünnung von 1 : 2000 wirksam waren. — Streit hat die Methode von Porges an einer großen Reihe von Stämmen nachgeprüft und gefunden, daß sie sehr unregelmäßige Resultate lieferte, in Bezug sowohl auf die Auflösung der Kapseln als auf die Agglutinabilität der Bakterien in normalen und spezifischen Seris. Sodann macht der Verfasser interessante Angaben über die Beeinflussung der Kapselbildung und damit der Agglutinabilität der Stämme durch Züchtung auf besonderen Nährböden und unter veränderten Wachstumsbedingungen. Es wurden z. B. durch Impfung auf Kartoffelagar die Stämme fast durchweg agglutinabler. Jedoch auch diese Methode war zu Differenzierungszwecken vorläufig nicht geeignet.

Eine neue Arbeit von Beham hat sehr ermutigende Resultate gezeitigt. Ebenfalls von der Voraussetzung ausgehend, daß die Kapseln der Bakterien die Schwierigkeiten bei der Agglutination verursachten, war Beham bestrebt, auf die Kapselbildung durch ein besonderes Kulturverfahren einzuwirken: er impfte durch mehrere Generationen hindurch von einzelnen Kolonien ab, die sich am oberen Rande von Schrägagarkulturen und somit unter ungünstigen Wachstumsbedingungen befanden. So konnte er gekapselte Stämme in kapsellose überführen und das agglutinatorische Verhalten dieser Modifikationen beobachten. Während nun die nativen Stämme absolut resistent gegenüber der Agglutination waren, erzielte er das Phänomen bei denselben, aber kapselfreien Stämmen mit geeigneten Immunseren bis zu hohen Verdünnungen

(1 : 8000). — Zum ersten Male gewinnt auch die Hoffnung Raum, die Agglutination zur praktischen Diagnose von durch Kapselbazillen bedingten Erkrankungen — nach Art der Widalschen Reaktion — mit Erfolg zu verwenden, wenn die Reaktion mit Laboratoriumsstämmen ausgeführt wird, die kapselfrei sind und als agglutinabel sich erwiesen haben.

Der heutige Stand der Frage, der in den letzten Arbeiten verteidigt wird, ist somit nicht einheitlich: der Nachweis der Spezifizität verschiedener Arten von Kapselbazillen, den Porges und v. Eisler durch die Agglutination (Dekapsulationsverfahren) und die Präzipitation geführt haben wollen, wird von Streit angefochten. Beham hat sich vornehmlich mit dem Agglutinationsphänomen beschäftigt und die Agglutinabilität der Kapselbazillen außer Frage gestellt, ohne sich jedoch über Differenzierungsmöglichkeiten auf diesem Wege zu äußern.

Unsere eigenen Untersuchungen über das serologische Verhalten der Kapselbazillen gingen aus von der Absicht, eine Methode der Antikörpergewinnung zu prüfen, die zwar im Prinzip kein Novum darstellt, jedoch in der von uns geübten Form noch nicht zur Anwendung gekommen ist. Sonderlich in der auf unsere Fragestellung bezüglichen Literatur haben sich keine Angaben darüber finden lassen. Es wurden bisher zur Immunisierung gegen Kapselbazillen stets lebende Kulturen verwandt oder solche, die durch chemische und physikalische Beeinflussung abgeschwächt oder getötet waren; diese wurden den Versuchstieren subkutan, intraperitoneal oder intravenös

einverleibt. Der Erfolg war häufig, daß die Tiere bei dem Verfahren eingingen oder mit lokalen entzündlichen Erscheinungen reagierten. Nur wenn die Behandlung mit geringen Mengen Kulturmaterials begonnen und mit steigenden Dosen lange Zeit hindurch fortgesetzt wurde, gelang eine Anreicherung von Antikörpern im Blute. So betont Bertarelli ausdrücklich, daß erst nach monatelang fortgesetzten Injektionen wesentliche Agglutininmengen nachweisbar seien. Im Gegensatze dazu wandte Beham mit gutem Erfolge die Methode von Fornet und Müller an: er brachte Kaninchen an drei aufeinanderfolgenden Tagen je eine lebende Agarkultur intravenös bei und erhielt am zehnten Tage nach der letzten Injektion Sera, die bis 1:2000 agglutinierten. Doch ist bekannt, daß diese Schnellimmunisierung große Opfer an Tiermaterial erfordert.

Unser Bestreben ging dahin, möglichst schnell, und ohne die Versuchstiere zu gefährden, Agglutinine zu gewinnen. Deshalb benutzten wir nicht die Kulturen der Bakterien, sondern deren Stoffwechselprodukte in Bouillonfiltraten. Es wurde Bouillon in Literkolben mit den betreffenden Stämmen beimpft und zwei bis vier Wochen im Brutschrank bei 37 Grad gehalten; sodann wurde die stark getrübte, bisweilen schleimigfadenziehende Flüssigkeit durch Berkefeldfilter geschickt und nach der Prüfung auf Sterilität zur Injektion verwandt. Die nähere Beschaffenheit der so gewonnenen Stoffwechselprodukte sei hier unerörtert. Zu den Versuchen dienten ausschließlich Kaninchen, und zwar wurde stets eine Serie von fünf Tieren mit demselben Filtrat gespritzt. Die Injektionen wurden intraperitoneal gemacht; jedes Kaninchen erhielt an sieben aufeinanderfolgenden Tagen täglich je 18 bis

20 ccm des Filtrates. Dabei wurde die Gewichtskurve genau verfolgt, die als Maßstab für das Befinden der Tiere diente. Trat keine Komplikation ein, so nahm das Gewicht täglich um 50—60 gr ab, um 2—3 Tage nach der letzten Injektion langsam wieder anzusteigen. Darmverletzungen wurden durch vorsichtiges Einführen der Kanüle möglichst vermieden, doch gingen verschiedene, besonders schwache Tiere zugrunde, anscheinend an einer Lähmung des Darmes. Bei der Sektion erwies sich dieser als aufgebläht und mit großen Mengen weichen Kotes gefüllt, während der Ausstrich aus der Bauchhöhle steril blieb. Diese Erscheinung ist wohl eine Folge des schweren Insults, den das Peritoneum durch die wiederholten Injektionen großer Flüssigkeitsmengen erfährt.

Sobald die Gewichtstabelle wieder eine Zunahme zeigte, also am 9. bis 11. Tage nach der ersten Injektion, wurde den Tieren aus der Ohrvene Blut entnommen zur Prüfung auf Agglutiningehalt. Bei günstigem Ergebnis folgte sodann ein zweiter größerer Aderlaß aus der Carotis. Die Agglutinationsreaktionen wurden in der Weise vorgenommen, daß in 1 ccm Serumverdünnung eine Öse Agarkultur verrieben wurde. Die Ablesung der Resultate geschah makroskopisch, entweder sofort oder in zweifelhaften und negativen Fällen endgültig nach 24 stündigem Verweilen der Reagenzröhren im Brutschrank. Selbstverständlich wurden stets die erforderlichen Kontrollen mit physiologischer Kochsalzlösung und Normalserum 1 : 10 gemacht.

Diese beschriebene Immunisierungsmethode wurde mit drei Bakterienstämmen durchgeführt, die in den weiteren Darlegungen als Fr I, Oz I und Scl I bezeichnet werden mögen; sie werden in unserer Kulturen-

sammlung als typische Vertreter des Friedländer-, Ozaena- und Rhinosclerombacillus schon seit langer Zeit weitergezüchtet. Die folgende Tabelle 1 zeigt den Ablauf der Reaktion, d. h. das Erscheinen, die Zu- und Abnahme der Agglutinine im Blute, die an einigen Tieren durch tägliche Titerbestimmung genauer verfolgt wurde. Dabei fand sich, daß bereits am 4. bis 5. Tage nach der ersten Injektion das Serum agglutinatorische Fähigkeit besitzt; diese erreicht ihren Höhepunkt am 9. bis 12. Tage, um dann langsam wieder abzusinken.

Tabelle 1.

Kaninchen 22, immunisiert mit Friedländer 1.

	Gewicht	Agglutinationstiter des Serums mit Friedländer 1
1. Tag (Injektion)	1780 gr	1 : 10 negativ
2. „ „	1620 „	1 : 10 „
3. „ „	1570 „	1 : 10 „
4. „ „	1480 „	1 : 200
5. „ „	1400 „	1 : 200
6. „ „	1400 „	1 : 800
7. „ „	1390 „	1 : 2000
8. „	1360 „	1 : 2000
9. „	1370 „	1 : 4000
10. „	1430 „	1 : 4000
11. „	1410 „	1 : 4000
12. „	1520 „	1 : 4000
13. „	1530 „	1 : 3000
14. „	1520 „	1 : 4000
15. „	1510 „	1 : 2000
16. „	1540 „	1 : 2000

Tabelle 2 gibt eine Zusammenstellung einiger wesentlicher Agglutinationsresultate.

Tabelle 2.

	Zur Immunisierung dienender Stamm	Titerwerte Agglutination mit		
		Fr I	Oz I	Scl I
Kaninchen 11	Fr I	1 : 1000		
„ 12	„	1 : 4000	1 : 600	1 : 10 neg.
„ 13	„	1 : 1000		
„ 6	Oz I	1 : 1000		
„ 7	„	1 : 4000	1 : 500	1 : 10 neg.
„ 9	„	1 : 2000	1 : 640	1 : 10 neg.
„ 17	Scl I	1 : 200	1 : 80	1 : 10 neg.

Kaninchen 9 ging am siebenten Behandlungstage ein. Es wurde sofort post exitum durch Eröffnung des Thorax Serum gewonnen. Dieses zeigte nicht nur die erwähnte starke Agglutinationsfähigkeit, sondern enthielt auch schon Präzipitin, von dem weiter unten die Rede sein wird.

Die Resultate in Tabelle 2 sind auffallend weniger wegen der erreichten Agglutinationstiter als wegen der merkwürdigen Beeinflussung der verschiedenen Sera und Immunstämme untereinander. Damit wird der Hauptpunkt des ganzen Problems berührt: Inwieweit ist die Agglutinabilität der Kapselbazillen abhängig von der Kapselbildung? Und spielen vielleicht noch andere Momente mit, die die Frage komplizieren?

Zweifellos ist die Schuld für das refraktäre Verhalten mancher Stämme gegenüber der Agglutinin-

einwirkung der Kapsel zuzuschreiben. Darauf ist das absolut negative Resultat bei Scl I zurückzuführen, der in der Kultur eine wohlausgebildete Kapsel aufweist und auf Agar in dickem, schleimig-glasigem Überzuge wächst. Fr I und Oz I haben dagegen ihre Kapseln verloren, wohl durch die lange Weiterzüchtung, und erscheinen auf der Agarkultur als weiße resp. gelbliche, relativ trockene Kolonien; Oz I bildet als Besonderheit einen eigenartig zähen, fadenziehenden Bakterienrasen, der sich schwer vom Nährboden ablösen und in den Agglutinationsröhrchen verreiben läßt. Diese beiden kapsellosen und damit gut agglutinablen Stämme konnten wir durch Tierpassagen wieder in ihre gekapselte Modifikation überführen. Es wurden weiße Mäuse mit einer letalen Dosis intraperitoneal geimpft, sodann aus dem Herzblut eine Kultur zur nächsten Tierpassage und zur Agglutinationsprüfung gewonnen, und an Milzausstrichen die Stadien der Kapselbildung verfolgt. Tabelle 3 zeigt bei Fr I die engen Beziehungen von zunehmender Kapselbildung zur Abnahme der Agglutinabilität.

Tabelle 3.

Stammkultur	kapsellos	Agglutination mit Serum von Kaninchen 9 bis 1 : 2000
1. Tierpassage	„	„ „ 1 : 500
2. „	beginnende Kapselbildung	„ „ 1 : 100
3. „	Zunahme der Kapseldicke	„ „ 1 : 20
4. „	„	„ „ 0
6. „	vollausgebildete Kapsel	„ „ 0

Infolge dieser wichtigen Erkenntnis, daß die Kapseln die Agglutination unmöglich machen, waren verschiedene Autoren bestrebt, die gekapselten Stämme von ihrer Hülle zu befreien, entweder nach der Dekapsulationsmethode von Porges oder durch Involution mittels besonderer Kulturverfahren. Versuche letzterer Art, wie sie von Streit und Beham angestellt wurden, sind vielversprechend; doch haben wir einen ähnlichen Weg nicht eingeschlagen, da wir im Besitze mehrerer kapselloser Stämme waren. Das Verfahren von Porges wird von verschiedener Seite als umständlich und unsicher bezeichnet. Beham, der sich eingehend damit befaßt hat, urteilt folgendermaßen: „Angesichts solcher Unsicherheiten (Spontanagglutination etc.) und starker Schwankungen in den agglutinatorischen Eigenschaften der vorbehandelten Kulturen der Kapselbazillen müßten wir vom Porgesschen Verfahren Abstand nehmen. Dasselbe scheint uns übrigens schon aus dem Grunde wenig empfehlenswert zu sein, da es ein ein für alle Male feststehendes Schema bietet, während die Bakterien individuellen Schwankungen je nach den verschiedensten Bedingungen unterliegen".

In der Tat scheinen noch andere Faktoren als allein die Kapselbildung eine Rolle hinsichtlich der Agglutinationsfähigkeit zu spielen. So fanden wir, daß die Agglutinabilität unseres kapsellosen Fr I-Stammes in weitgehendem Maße abhängig von dem Alter der Agarkulturen ist. Jüngere, 12—20 stündige Kulturen werden äußerst langsam agglutiniert und bleiben beträchtlich unter der Titergrenze. Anfangs auffällige Unstimmigkeiten in den Vergleichsresultaten nötigten uns daher, für alle Agglutinationsversuche

nur 40—42 stündige Kulturen zu verwenden. Diese waren gut und gleichmäßig agglutinabel, ohne, wie es sonst häufig bei älteren Kulturen der Fall, zur Spontanagglutination zu neigen. Selbst mehrwöchentliche Kulturen gaben in Normalserum 1:10 eine gleichmäßige Suspension. — Eine andere Schwierigkeit bot der Oz I-Stamm, der mikroskopisch keine Spur von Kapselbildung zeigte, jedoch durch sein zähes Wachstum die Verreibung in den Versuchsröhrchen außerordentlich erschwerte. Dies Phänomen war ebenfalls in eintägigen Kulturen ausgesprochener als in älteren. Hiermit hängt es wohl auch zusammen, daß das mit diesem Stamm gewonnene Serum in der Verwandtschaftsreaktion auf Fr I seine spezifische Wirkung übertraf. Andere kapsellos wachsende Friedländer-, Ozaena-, und sonstige Kapselstämme (näheres darüber weiter unten) waren der Gruppenagglutination garnicht oder in sehr geringem Grade zugänglich. — So ist der Schluß berechtigt, daß jeder einzelne, auch kapsellose Stamm besondere individuelle Widerstände darbietet, denen man erst genau nachspüren muß, ehe man ihn für nicht agglutininbildend oder nicht agglutinabel erklärt. Anderseits besteht der Verdacht — im Hinblick auf die Resultate der Agglutination sowohl wie der später zu erwähnenden Präzipitation —, daß stark gekapselte Stämme zur Antikörperbildung wenig geeignet sind, daß also auch hier die Kapsel das Freiwerden von Antikörper erzeugenden Stoffen verhindert. Doch sind unsere Versuche in dieser Frage nicht beweisend.

Es lag nahe, die von uns geübte Methode der Antikörpergewinnung der bisher noch nicht endgültig

geklärten Systematik der Kapselbazillen nutzbar zu machen. Deshalb wurden die gewonnenen Sera an einer Reihe von 19 Stämmen geprüft. Diese befanden sich teils in unserer Kulturensammlung, teils wurden sie reingezüchtet aus Material, das dem hiesigen Untersuchungsamt für ansteckende Krankheiten eingesandt war, teils wurden sie uns vom Sächsischen Serumwerk, Dresden, zur Verfügung gestellt.

Bevor wir die Kulturen zu serologischen Versuchen verwandten, unterzogen wir sie einer Prüfung hinsichtlich ihres morphologischen und kulturellen Verhaltens. Sämtliche Stämme zeigten Stäbchen- und Doppelstäbchenformen mit geringen Modifikationen in Länge und Dicke; übereinstimmend war ferner bei allen die fehlende Eigenbewegung und die Gramnegativität. Die am Schluß angehängte Tabelle 4 erläutert die kulturellen Eigenschaften.

Indolbildung in Peptonwasser wurde bei keinem der Stämme beobachtet; das stets kräftige Wachstum in Bouillon bot keine charakteristischen Merkmale.

Der Vergleich dieser Resultate ist in mancher Hinsicht bemerkenswert. Doch ist es nicht der Zweck dieser Arbeit, auf Einzelheiten wie z. B. die Gasbildung auf der Kartoffel näher einzugehen. Augenfällig ist das verschiedene Vergärungs- und Säurebildungsvermögen.

Das Verhalten der Skleromstämme steht im Gegensatz zu dem der Friedländer-, Ozaena- und Aerogenesstämme. Somit bestätigen sich die Untersuchungsbefunde anderer Autoren (Clairmont, Bertarelli), die in der Gas- und Säurebildung ein durchaus brauchbares Einteilungsprinzip sehen. Zwar kann man das

Vorkommen von abnorm oder unbestimmt reagierenden Stämmen nicht von der Hand weisen, aber immerhin ist es bei der Unsicherheit auf diesem Gebiete zu begrüßen, daß die Aufstellung zweier Haupttypen als gesichert erscheint: des säurebildenden und zuckervergärenden Kapselbazillus und des dazu ganz oder beinahe unfähigen. Zur ersten Gruppe gehören die Friedländer- und Ozaenabazillen, für deren Identität sich Clairmont ausspricht, ferner die Aerogenesstämme, der Bacillus capsulatus Fasching und unsere Stämme Kapselbazillus Fulda, 1067, 2508, während anderseits die Skleromstämme, der Bacillus capsulatus mucosus Fasching und die Stämme 52 und 1613 sich nahestehen.

Eine so weit gehende Zusammenfassung soll jedoch nicht die alte Gewohnheit tangieren, die Stämme, nach ihrem Fundort etc. zu benennen, denn es ist, wie Abel sagt, besser, hier zuviel zu trennen als zuviel zusammenzuwerfen, solange nicht alle Bedenken geschwunden sind.

In der serologischen Differenzierung sind am weitesten Porges und Eisler vorgedrungen, die Friedländer-, Ozaena- und Skleromstämme vermittels der Agglutination und Präzipitation voneinander trennen konnten. Bisher ist dieser Befund noch nicht bestätigt worden. In der Tat sind, was die Agglutination betrifft, die Resultate so vielen schwer berechenbaren Fehlerquellen ausgesetzt, daß diese Methode vorläufig ungeeignet erscheint. Es liegt dies, wie wir zeigten, weniger an der Agglutininarmut der Immunsera, als an Schwierigkeiten hinsichtlich der Vereinigung mit

der agglutinablen Substanz der Bakterien, deren Beseitigung noch weiterer Forschung bedarf.

Tabelle 5 zeigt die Agglutinationswerte der 19 Kapselstämme in einigen der gewonnenen Sera.

Tabelle 5.

	Friedländer 1-Serum Kaninchen 12	Ozaena 1-Serum Kaninchen 7	Sklerom 1-Serum Kaninchen 17
Friedländer 1	1 : 4000	1 : 4000	1 : 200
„ 2	Spontanagglutination in physiol. Kochsalzlösung		
„ 3	1 : 40	0	0
„ 4	1 : 40	0	0
Ozaena 1	1 : 600	1 : 500	1 : 80
„ 2	1 : 10	0	0
Sklerom 1	0	0	0
„ 2	0	0	0
„ 3	0	0	0
„ 4	0	0	0
Bac. caps. muc. F.	0	0	0
Bac. caps. F.	Agglutination in normalem Kaninchenserum bis 1 : 40		
Aerogenes 1	1 : 10	1 : 10	0
„ 2	0	1 : 10	0
Kapselbaz. Fulda	0	0	0
„ 52	0	0	0
„ 1613	0	0	0
„ 1067	0	0	0
„ 2508	0	0	0

Die Zahlen geben die Titerwerte an, 0 bedeutet negativen Ausfall der Reaktion in Verdünnung 1 : 10.

Außer den schon erwähnten auffälligen Verwandtschaftsbeziehungen zwischen Friedländer I und Ozaena I läßt die Tabelle keine erheblichen Gruppenreaktionen erkennen zwischen Stämmen, die sich kulturell sicher nahestehen, und die, wie nochmals betont sein möge, zum größten Teil ohne Kapselbildung wachsen. Jedenfalls wäre es gewagt, daraufhin bestimmte Beziehungen zwischen den einzelnen Stämmen aufstellen zu wollen.

Weit erfolgreicher gestalteten sich Präzipitinversuche, die wir mit denselben Seren vornahmen. Als präzipitable Substanz diente Bouillon, die nach einmonatlichem Wachstum der Bakterien durch Berkefeldfilter geschickt wurde. Den klaren, unverdünnten Filtraten wurde in Präzipitinröhrchen das Serum unterschichtet, und nach 5 Minuten ließ sich ablesen, ob in der Berührungszone der beiden Flüssigkeiten ein Ring von weißen Präzipitaten sich gebildet hatte. Nur in einigen Fällen konnte ein Zweifel über den positiven oder negativen Ausfall der Reaktion bestehen. Die nötigen Kontrollversuche mit normalem Kaninchenserum und Normalbouillon wiesen auf die Exaktheit des Phänomens hin.

Tabelle 6 gibt eine Übersicht über das Verhalten zweier Sera gegenüber den Bouillonfiltraten der 19 Stämme. + bedeutet Ringbildung, ++ dieselbe in besonders starkem Grade; +— bezeichnet fraglichen, — negativen Ausfall der Reaktion.

Tabelle 6.

	Friedländer 1-Serum Kaninchen 12	Ozaena 1-Serum Kaninchen 7
Friedländer 1	++	++
„ 2	+	+
„ 3	+	+
„ 4	+	+
Ozaena 1	++	++
„ 2	+	+—
Sklerom 1	—	—
„ 2	—	—
„ 3	—	—
„ 4	—	—
Bac. caps. muc. F.	—	+—
Bac. caps. F.	+—	—
Aerogenes 1	+—	+
„ 2	++	++
Kapselbaz. Fulda	+	+
„ 52	—	—
„ 1613	—	—
„ 1067	+	+
„ 2508	+	+

Das gewonnene Skleromserum zeigte keine präzipitierenden Eigenschaften.

Auch hier tritt wieder der auffällige Parallelismus des Friedländer- und Ozaenaserums zutage. Von einer engbegrenzten Spezifizität ist, wie man sieht, nicht die Rede. Sämtliche Friedländer-, Ozaena-, Aerogenes- und die Kapselstämme Fulda, 1067 und 2508 geben die gleichsinnige Reaktion. Zieht man jedoch zum Vergleich das kulturelle Verhalten dieser

Stämme heran, so findet sich auch dort eine Übereinstimmung hinsichtlich des Zuckervergärungsvermögens und der Säurebildung. Anderseits sind diejenigen Stämme, denen die Fähigkeit zu diesen chemischen Leistungen abgeht, refraktär gegenüber der Präzipitation. Es sind dies die Skleromstämme, der Bacillus capsulatus mucosus Fasching und die Kapselbazillen 1613 und 52. Nur einmal, bei dem Bac. caps. muc. F., erhielten wir ein fragliches Resultat.

Eine unsichere Stellung nimmt lediglich der Bacillus capsulatus Fasching ein.

Es mag offengelassen werden, ob das Ausbleiben der Präzipitation bei den erwähnten Stämmen durch die ungenügende Bildung von präzipitablen Substanzen verschuldet ist, oder ob die gelieferten Eiweißkörper dem Präzipitin fremdartig sind. Die Unwirksamkeit des Skleromserums spricht allerdings mehr für die erstere Annahme, doch besagt diese eine Tatsache zu wenig. Jedenfalls hat sich hier eine Möglichkeit geboten, die wichtigsten Vertreter der Kapselbazillen in zwei große Gruppen zu teilen, und diese Trennung folgt derselben Linie, die die kulturelle Methodik vorgezeichnet hat.

Es sei noch erwähnt, daß der Versuch gemacht wurde, komplementbindende Antikörper in den Seren nachzuweisen, nach der Methode der Wassermannschen Reaktion. Als Antigen dienten wiederum die Bouillonfiltrate. Während diese und die Sera allein das Komplement nicht beeinflußten, riefen sie, zusammengebracht, in allen Fällen eine Hemmung der Hämolyse hervor. Leider aber sind unsere Versuche in dieser Richtung nicht einwandfrei, da die Kontrollen mit Normalserum ebenfalls hemmten.

Der Nachweis passiv immunisierender Stoffe konnte an dem Friedländerserum nicht geführt werden: weiße Mäuse, die mit einer nach 24 Stunden tötlichen Dosis (1 : 10 Öse Fr I-Kultur) zusammen mit ½ ccm Serum gespritzt wurden, erlagen der Infektion ebenso schnell wie die Kontrollmäuse.

Die Ergebnisse dieser Arbeit lassen sich folgendermaßen zusammenfassen:

1. Man ist sehr wohl imstande, Antikörper, d. h. Agglutinine und Präzipitine, gegen Kapselbazillen zu gewinnen. Die von uns angewandte Methode der Schnellimmunisierung mit sterilen Bouillonfiltraten scheint dazu besonders leistungsfähig zu sein.

2. Die Agglutinabilität der Kapselstämme ist in weitgehendem Maße abhängig von dem Stadium der Kapselbildung, in dem sich die Bazillen befinden. Doch sind wahrscheinlich noch andere, für jeden Stamm individuelle Faktoren imstande, die Exaktheit der Reaktion zu beeinträchtigen. Es empfiehlt sich, ältere (40 stündige) Kulturen zur Agglutinationsreaktion zu verwenden.

3. Aus den unter 2. angeführten Gründen ist die Agglutination vorläufig nicht geeignet, eine Basis zur Differenzierung der Kapselbazillen abzugeben. Bessere Resultate scheint in dieser Hinsicht die Präzipitation zu versprechen. Es ist uns gelungen, mit Hilfe der Präzipitinmethode die säurebildenden und zuckervergärenden (Friedländer-, Ozaena-, Aerogenes-) Stämme von den dazu unfähigen (Sklerom-) Stämmen zu trennen.

Literatur.

Abel, Kolle-Wassermann, Handbuch der pathogenen Mikroorganismen, 3. Band.

Beham, C. f. B., I. Abt., Orig. Bd. 66 Heft 1, 1912.

Bertarelli, C. f. B., I. Abt., Bd. 37 Ref. p. 338.

Clairmont, Z. f. Hyg., Bd. 39.

v. Eisler u. Porges, C. f. B., I. Abt., Bd. 42 Orig. p. 660.

Klemperer u. Scheier, Z. f. klin. Med., Bd. 45, 1902.

Kraus u. Donath, Baumgartens Jahresbericht 1897 p. 640.

Landsteiner, Wiener klin. Wochenschr., 1897 p. 443.

Porges, Wiener klin. Wochenschr., 1905 Nr. 26.

Sicard, zit. n. Clairmont, Z. f. Hyg. Bd. 39.

Streit, C. f. B., I. Abt., Bd. 40 Orig. p. 709.

Wilde, C. f. B., Bd. 20, 1896.

Wolf, Arch. f. Hyg., Bd. 55 p. 32.

Erben. C. f. B., I. Abt., Orig.-Bd. 41 p. 370.

Tabelle 4.

		Agar	Traubenzucker-agar	Milchzucker-agar	Rohrzucker-agar	Lakmusmolke	Milch	Karfoffel	Gelatine
Friedländer 1 Laboratoriumskultur	kapsellos	weiße trockene Kolonien	Vergärung	Vergärung	Vergärung	sauer	nicht geronnen	kräftiges Wachstum Gasbildung	nicht verflüssigt nagelförmiges Wachstum Gasbildung
Friedländer 2 Pneumonie Dresden	kapsellos	weiße trockene Kolonien	Vergärung (schwach)	Vergärung	Vergärung	sauer	nicht geronnen	keine Gasbildung	Wachstum schwach
Friedländer 3 Lunge Maus Dresden	kapsellos	gelbliche flache Kolonien	Vergärung	Vergärung (stark)	Vergärund (stark)	sauer	nicht geronnen	dicker Belag Gasbildung	nagelförmiges Wachstum
Friedländer 4 Milz Maus Dresden	kapsellos	gelbliche flache Kolonien	Vergärung	Vergärung (stark)	Vergärung (stark)	sauer	nicht geronnen	dicker Belag Gasbildung	nagelförmiges Wachstum
Ozaena 1 Laboratoriumskultur	kapsellos	weiße erhabene Kolonien von zäher Konsistenz	Vergärung	Vergärung	Vergärung (stark)	sauer	nicht geronnen	dicker Belag Gasbildung	nagelförmiges Wachstum
Ozaena 2 Dresden	kapsellos	weiße trockene Kolonien	Vergärung	Vergärung (schwach)	Vergärung	sauer	nicht geronnen	dicker Belag Gasbildung	nagelförmiges Wachstum
Sklerom 1 Laboratoriumskultur	gekapselt	dicker glasiger Belag	keine Vergärung	keine Vergärung	keine Vergärung	alkalisch	nicht geronnen	schleimiger Belag keine Gasbildung	nagelförmiges Wachstum
Sklerom 2 Laboratoriumskultur	kapsellos	flache trockene Kolonien	keine Vergärung	keine Vergärung	keine Vergärung	alkalisch	nicht geronnen	dünner Überzug	flache Auflagerung
Sklerom 3 v. Eiselsberg	gekapselt	dicker feuchtzerfließender Überzug	keine Vergärung	keine Vergärung	keine Vergärung	alkalisch	nicht geronnen	dicker glasiger Belag	nagelförmiges Wachstum
Sklerom 4 Sternberg	gekapselt	dicker feuchtzerfließender Überzug	keine Vergärung	keine Vergärung	keine Vergärung	alkalisch	nicht geronnen	dicker glasiger Belag	nagelförmiges Wachstum
Bacill. caps. mucosus Fasching	gekapselt	dicker feuchtzerfließender Überzug	keine Vergärung	keine Vergärung	keine Vergärung	alkalisch	nicht geronnen	dicker glasiger Belag	nagelförmiges Wachstum
Bacillus capsulatus Fasching	kapsellos	trockenes Wachstum	Vergärung	Vergärung	Vergärung	neutral	nicht geronnen	schwache Blasen-bildung	nagelförmiges Wachstum
Bacillus aerogenes Escherich	kapsellos	trockenes Wachstum	lebhafte Vergärung	lebhafte Vergärung	lebhafte Vergärung	sauer	geronnen	kräftige Gasbildung	nagelförmiges Wachstum
Bacillus aerogenes Faeces Dresden	kapsellos	trockenes Wachstum	lebhafte Vergärung	lebhafte Vergärung	lebhafte Vergärung	sauer	geronnen	kräftige Gasbildung	nagelförmiges Wachstum
Kapselbazillus Fulda	gekapselt	fadenziehender Belag	Vergärung	Vergärung	Vergärung	sauer	nicht geronnen	kräftige Gasbildung	nagelförmiges Wachstum
Kapselbazillus 52	gekapselt	fadenziehender Belag	keine Vergärung	keine Vergärung	keine Vergärung	alkalisch	nicht geronnen	keine Gasbildung	nagelförmiges Wachstum
Kapselbazillus 1613	kapsellos	weißlich-gelbes trockenes Wachstum	keine Vergärung	keine Vergärung	keine Vergärung	alkalisch	nicht geronnen	keine Gasbildung	nagelförmiges Wachstum
Kapselbazillus 1067	kapsellos	weißlich-gelbes trockenes Wachstum	Vergärung (stark)	Vergärung	Vergärung	sauer	geronnen	Gasbildung	nagelförmiges Wachstum
Kapselbazillus 2508	kapsellos	weißlich-gelbes trockenes Wachstum	Vergärung (stark)	Vergärung (stark)	Vergärung (schwach)	sauer	geronnen	Gasbildung	nagelförmiges Wachstum

Lebenslauf.

Am 23. Mai 1889 wurde ich, Wilhelm Cordes, katholischer Konfession, zu Elberfeld geboren, als Sohn des Geheimen Baurats Heinrich Cordes und seiner Frau Laura, geb. Weber. Nach $3^1/_2$jährigem Besuch der Elementarschule in Dortmund erhielt ich meine Gymnasialbildung auf dem Bismarckgymnasium zu Berlin-Wilmersdorf, das ich im Herbst 1907 mit dem Zeugnis der Reife verließ, um mich dem Studium der Medizin zu widmen.

Im Wintersemester 1907/8 studierte ich in Berlin, im Sommersemester 1908 in Freiburg. Dann ging ich nach Marburg und legte hier am 2. März 1910 die ärztliche Vorprüfung ab. Das Sommersemester 1910 verbrachte ich in Berlin, um dann nach Marburg zurückzukehren und hier meine Studien zu vollenden. Am 9. Dezember 1912 bestand ich vor der Prüfungskommission in Marburg die ärztliche Prüfung.

Meine akademischen Lehrer waren

in Berlin: Fischer, His, Klapp, Orth, Straßmann, Waldeyer;

in Freiburg: Himstedt, Keibel, Oltmanns, Weismann;

in Marburg: Bach, Beneke, Bonhoff, Brauer, Bruns, Disse, Friedrich, Gasser, Gürber, Haecker, Hildebrand, Hohmeyer, Hübner, Jahrmärker, König, Korschelt, Krauß, Kutscher, Lohmann, Matthes, Meyer, Müller, Ostmann, Richarz, Rieländer, Römer, Schenck, Schmidt, Schöne, Tuczek, Zangemeister, Zincke.